



University of Groningen

## De klinische betekenis van de serumconcentraties van isonicotinezuurhydrazide en streptomycine

Graaff, J.L. de

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*  
1965

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Graaff, J. L. D. (1965). De klinische betekenis van de serumconcentraties van isonicotinezuurhydrazide en streptomycine. Groningen: s.n.

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

## SAMENVATTING EN CONCLUSIES

In dit proefschrift worden de resultaten beschreven van een onderzoek naar de invloed van de serumconcentraties van isonicotinezuurhydrazide (INH) op de therapeutische resultaten bij patienten met longtuberculose. Ook de serumconcentraties van streptomycine (SM) zijn het onderwerp van een korte bespreking.

Het eerste hoofdstuk beschrijft *de ontwikkeling* van het onderzoek naar de INH-stofwisseling.

Deze ontwikkeling blijkt nauw samen te hangen met die van de bepalingsmethode van INH en INH-metabolieten.

Naar aanleiding van de grote individuele verschillen in INH-afbraaksnelheid wordt aandacht geschonken aan publicaties die wijzen op de mogelijke consequenties hiervan ten aanzien van de INH-therapie.

Het tweede hoofdstuk geeft een overzicht van de belangrijkste *bepalingsmethoden* van INH (Tabel II en III en punt C).

De meest betrouwbare chemische methode is, zeer waarschijnlijk, de methode van Peters (1958). Van de microbiologische methodes is de verticale diffusie-methode (V.D.M.) van Schmiedel (1958) waarschijnlijk het meest betrouwbaar. Deze methode ligt door de eenvoud van uitvoering binnen het bereik van elke tuberculosekliniek. Zie figuur I.

Een beschrijving van de door ons gebruikte techniek volgt in het tweede deel van dit hoofdstuk.

Daarna worden enkele aspecten van de V.D.M. besproken.

De methodefout blijkt maximaal  $\pm 25\%$  te zijn, mits men de bepaling in drie-voud verricht en bij elke bepaling een nieuwe ijklijn maakt.

Naar aanleiding van de invloed die het INH-solvens heeft op de remmingshoogten, gaan we nader in op de mogelijkheid dat INH aan de serumeiwitten wordt geadsorbeerd.

Het blijkt dat er argumenten zijn aan te voeren, dat INH een dergelijke reversibele binding met de serum-eiwitten aangaat. (figuren II, III en IV).

Bij het onderzoek naar de stabiliteit van INH in serum-oplossingen blijkt er, bij gebruik van de V.D.M., geen verlies van INH of INH-aequivalent op te treden wanneer INH-bevattend serum gedurende één week bij  $+ 4^{\circ}\text{C}$  wordt bewaard. (tabel IV)

De door Jenne (1962) e.a. beschreven omzetting in vitro van INH in hydrazonen lijkt ons onwaarschijnlijk, ondanks de door Youatt (1960) gevonden directe antibacteriele werking van deze verbindingen op een B.C.G.-stam.

Het derde hoofdstuk vermeldt *de serumconcentraties van INH* 2 en 6 uur na orale toediening van 4 mg/kg bij een groep van 123 patiënten met verse, uitgebreide tuberculeuze longafwijkingen.

Deze dosering en tijden kozen we naar voorbeeld van de meeste onderzoeken op dit gebied.

Naar aanleiding van de frequentie-verdelingen (figuren VI en VII) worden deze 123 patiënten verdeeld in twee groepen; nl. een groep met lage serumconcentraties ("snelle afbrekers") en één met hogere concentraties ("trage afbrekers").

We spreken van snelle afbrekers indien de 2 uur-concentraties na 4 mg/kg oraal lager of gelijk zijn aan 2 mcg/ml of als de 6 uur-concentraties lager of gelijk zijn aan 0,5 mcg/ml. Deze indeling blijkt goed reproduceerbaar (tabel VII). Verder is er een goede correlatie tussen de 2- en 6-uur waarden (tabel VIII).

Volgens deze criteria vinden we 48% snelle- en 52% trage INH-afbrekers.

Deze percentages stemmen goed overeen met de waarden die met dezelfde criteria bij bevolkingsgroepen van Europese afkomst werden gevonden. Zij wijken sterk af van de verdeling van snelle en trage afbrekers bij o.a. mongoloïde bevolkingsgroepen.

Gewichtstoename, de mate van activiteit van het ontstekingsproces en langdurige toediening van INH geven geen duidelijke verandering in de snelheid van INH-afbraak (tabel VIII).

De invloed van gefractioneerde toediening van INH op de serumspiegels wordt vervolgens benaderd.

Het lijkt zeer waarschijnlijk dat bij trage INH-afbrekers cumulatieve optreedt door gefractioneerde toediening van 100 mg oraal om de drie tot vijf uur.

Bij snelle afbrekers vindt dit niet plaats. De "period of coverage" is bij hen ook beduidend korter. (figuur VIII).

Verder wordt de *invloed van para-aminosalicylzuur (PAS)* op de serumconcentraties van INH besproken.

Uit het literatuuronderzoek (tabel IX) blijkt dat de moeilijkheid, waarmee alle microbiologische bepalingsmethodes

kampen, ligt in de fout die veroorzaakt wordt door de antibacteriele werking van PAS, als INH-concentraties worden gemeten in aanwezigheid van PAS.

Omdat het kweken van een homogene, tot hoge PAS-concentraties resistente BCG-stam moeilijkheden opleverde, trachtten we de PAS-werking te antagoneren door para-aminobenzoezuur (PABA) toe te voegen (tabel XII).

De methodefout blijkt dan ongeveer  $\pm 50\%$  te zijn.

Bij 16 patienten, namelijk 11 snelle en 5 trage INH-afbrekers, werd de invloed van PAS op de serumconcentraties van INH nagegaan. Tevoren waren bij deze patienten een of meer malen de 2- en 6 uur concentraties van INH gemeten na INH alleen in een dosering van 4 mgr/kg p.o. Wanneer behalve INH tevens tweemaal PAS in een dosering van 2 of 4 gram oraal werd gegeven, vonden we geen significante stijging van de INH-concentraties bij snelle en/of trage INH-afbrekers (zie figuren X en XI).

Dit resultaat stemt, voorzover vergelijkbaar, overeen met de resultaten die Peters verkreeg in 1958 en 1960.

Het vierde hoofdstuk geeft aandacht aan de *litteratuurgegevens* over het onderzoek naar de reactie tussen de serumspiegels of dosering van INH en een aantal klinische resultaten.

De conclusies hieruit kunnen als volgt worden samengevat:

- a. Meestal werden er geen duidelijke relaties gevonden tussen de dosering of de serumconcentraties van INH en culturele sputumconversie.
- b. Er werd door Canetti en Grosset (1958) geen verband gevonden tussen de kweekresultaten uit resectiemateriaal na voorafgaande chemotherapie met INH o.a. en de serumspiegels van INH. De geopereerde patienten vormden bij hen echter een selectie van gevallen met een ongunstig klinisch beloop.
- c. Wel vinden deze auteurs, evenals de groep van Middlebrook (1957) een verband tussen de serumspiegels en de resistentiehoogte en/of katalase-activiteit van INH-resistente mutanten bij secundaire INH-resistentie.

Het vijfde hoofdstuk behandelt eerst de *voorwaarden en de definities* bij ons onderzoek naar de bovengenoemde klinische resultaten.

Voor het onderzoek naar de *culturele en microscopische sputumconversie* kwamen patienten met matig- tot sterk uitgebreide, meestal caverneuze, tuberculeuze longafwijkin-

gen in aanmerking.

De gevoeligheid van de bacteriën diende normaal te zijn. De leeftijden van de mannen en vrouwen varieerde tussen 15 en 75 jaren.

Zij werden behandeld met PAS, SM en INH in combinatie

De aldus geselecteerde 123 patienten werden naar de snelheid van INH-afbraak in snelle en trage INH-afbrekers, verdeeld en naar de uitgebreidheid van hun tuberculeuze longafwijkingen in twee klassen (I en II) Zie tabel XIV. Verder was er een indeling naar de frequentie van SM-toediening (3 of 7 maal per week).

We spreken van microscopische of culturele sputumconversie indien het sputum resp. de nuchtere maaginhoud tijdens de behandeling negatief wordt en dit blijft gedurende de behandeling.

Het tijdstip van negatief worden stelden we 14 dagen na het laatste positieve sputum resp. maagkweek.

De storende factor in het onderzoek naar de microscopische sputumconversie, ontstaan door het niet meer opgeven van sputum, blijkt van weinig invloed in klasse I omdat de "microscopische sputumconversie", die het gevolg is van het niet langer opgeven van sputum bij snelle en trage INH-afbrekers slechts weinig verschilde na  $2\frac{1}{2}$  maanden gecombineerde chemotherapie. Zie Tabel XVI.

Bij het onderzoek naar de *kweekpositiviteit uit resectiemateriaal* blijken 54 van de bovengenoemde 123 patienten een thoracotomie te hebben ondergaan.

Hiervan zijn er 51 die na een chemotherapeutische behandeling van 6 tot  $12\frac{1}{2}$  maanden resectie van een longdeel ondergingen. Bij deze 51 patienten zijn er 26 snelle- en 25 trage afbrekers.

Deze verdeling is goed vergelijkbaar met de verdeling van de snelle en trage afbrekers over het totale aantal patienten. Op grond hiervan en van de door Kraan (1960) en Mulder-de Jong (1960) beschreven indicatiestelling voor resectietherapie in deze kliniek, kan worden geconcludeerd dat de geopereerde patienten geen selectie vormden van ongunstig verlopende gevallen.

Als "kweekpositiviteit" wordt hier bedoeld de groei van humane, niet-resistente, tuberkelbacterien op Löwenstein-Jensen voedingsbodems of bij geïnoculeerde caviae.

Een onderzoek naar de relatie tussen de INH-spiegels enerzijds en de *resistentie-hoogte of katalase-activiteit* van INH-resistente stammen anderzijds kon bij een andere groep van 25 patienten worden verricht. Bij deze patienten is

secundaire INH-resistentie waarschijnlijk.

De resistentiehoogte wordt aangegeven als de maximale INH-concentratie waarbij de kolonie-groei op Löwenstein-Jensen voedingsbodems dezelfde is als de groei op de controlebuizen.

De katalase-activiteit wordt uitgedrukt in het gemiddeld aantal seconden dat verloopt voordat gasontwikkeling optreedt.

Daarna worden de *resultaten* vermeld van ons onderzoek naar de relatie tussen de serumspiegels van INH en de *snelheid van sputumconversie* (tabellen XVII t/m XX en figuren XII t/m XIV).

We vinden bij de bovengenoemde indeling in groepen naar de grootte der afwijkingen en naar de SM-dosering significante verschillen in de snelheid van microscopische sputumconversie tussen snelle- en trage afbrekers van INH.

In de groepen met de meest uitgebreide afwijkingen, namelijk klasse I, is de latere conversie bij de snelle afbrekers het meest duidelijk.

Bij het onderzoek naar de culturele conversie-snelheid vinden we tussen dezelfde groepen geen significante verschillen.

Vervolgens gaan we de frequentie na, waarin "Kultur-Versager" en "Mikroskopie-Versager" bij snelle en trage afbrekers worden aangetroffen. Het blijkt dan dat er significant meer "Kultur-Versager" bij de snelle INH-afbrekers zijn.

Vergelijken we het aantal snelle- en trage afbrekers dat een positieve *kweek* toonde *uit resectie-materiaal*, dan zien we significant meer positieve kweken bij de snelle afbrekers.

De cijfers tonen bovendien de, overigens niet-significante, suggestie dat de frequentie waarin positieve kweken worden gezien, toeneemt bij de lagere SM-doseringen (zie tabel XXI en XXII).

Verder zien we bij het onderzoek naar de relatie tussen de serumspiegels van INH enerzijds en de *resistentiehoogte of katalase-activiteit* anderzijds dat bij snelle INH-afbrekers zowel laag- als hoog INH-resistente bacteriën worden gevonden. (Zie tabel XXIII).

De trage INH-afbrekers tonen echter voornamelijk hoog-resistente (tot 10 mcg/ml INH) bacteriën.

Het verschil in frequentie, waarin bij snelle en trage afbrekers een resistentiehoogte  $\leq 1$  mcg/ml wordt gevonden is significant.

De minder exact te bepalen katalase-activiteit toont hier mee een redelijke overeenstemming, in die zin dat bij trage afbrekers, in tegenstelling met de snelle afbrekers, geen stammen worden gevonden met een (gemiddelde) katalase-activiteit, kleiner dan 10 seconden. (tabel XXIII)

Vervolgens zijn deze resultaten het onderwerp van *bespreking*.

Van belang is dat verschillende auteurs "Kultur-Versager" tijdens chemotherapeutische behandeling in toenemende mate gaven optreden.

Waarschijnlijk is dit een uiting van (blijvende) beschadiging van de bacteriën.

De toename van deze niet-kweekbare bacterien bij de lagere INH-spiegels, tijdens gecombineerde chemotherapie, is mogelijk het gevolg van een minder verlies van zuurvastheid van de bacteriën, waardoor ze bij de snelle afbrekers veel vaker worden gezien dan bij de trage afbrekers.

De vaker voorkomende kweekpositiviteit uit gereserceerde longhaarden na maandenlange chemotherapie bij lagere INH-spiegels is mogelijk het gevolg van een later irreversibel worden van de bacteriostase. Zowel de anaerobe condities van het milieu als de bemoeilijkte diffusie doen de situatie verschillen van die in caverne's.

Het verminderd optreden van laag INH-resistente bacterien bij secundaire INH-resistentie zal volgens *Canetti* en *Grosset* (1958) het gevolg zijn van het verdwijnen van de laag-resistente mutanten tijdens een therapie waarbij hogere serumconcentraties van INH worden bereikt

Vervolgens gaan we in op de klinische betekenis van de "Kultur-Versager", de positieve kweken uit resectiemateriaal na voorafgaande chemotherapie en de resistentiehoogten van secundair INH-resistente mutanten.

Deze betekenis is, naar alle waarschijnlijkheid, voldoende groot om te trachten hogere INH-spiegels, althans bij de snelle afbrekers, te bereiken.

Een uniform hoge dosering brengt te veel toxische risico's met zich mee, waarom dosering naar de hoogte der serumspiegels gewenst lijkt.

Het zesde hoofdstuk heeft de serumconcentraties van streptomycine tot onderwerp.

Nagegaan wordt, in verband met de grote verschillen die

Middlebrook c.s. (1959) vonden in de serumspiegels van SM na intramusculaire toediening van 20 mg/kg, hoe deze verschillen kunnen worden verklaard.

Er blijkt een nauw verband te bestaan tussen de kreatinineklaring en de serumconcentraties van SM (zie figuur XV).

Bij 7 personen met een normale kreatinine-klaring (120-170 ml/min) zien we een sterke uniformiteit in de serumconcentraties na toediening van 10 mg/kg SM-sulfaat intramusculair.

Bij 6 personen met een matig tot licht gestoorde klaring (70-105 ml/min) zien we een sterk significant tragere uitscheiding van SM.

In de discussie gaan we nader in op de serumconcentraties van streptomycine, in verband met de chemotherapeutische behandeling van longtuberculose.

Het lijkt niet onwaarschijnlijk, dat een dosering van  $\frac{1}{2}$  gr SM-sulfaat dd onvoldoende is wanneer de SM moet diffunderen in avasculaire, necrotische gebieden om de bacterien te bereiken.

### *Conclusie:*

Op grond van literatuurgegevens en de resultaten van ons onderzoek zouden we het volgende willen concluderen:

- 1°. Het verdient aanbeveling INH te doseren naar de hoogte van de serumconcentraties van INH.  
Dit geldt o.i. voor elke vorm van INH-behandeling.
- 2°. Bij toediening van streptomycine verdient het aanbeveling, wegens de toxische bijwerkingen ervan, de glomerulusfiltratie vooraf te bepalen (i.c. kreatinine-klaring) en de dosering hierbij aan te passen.
- 3°. Verder zal bij ontstekingsprocessen die met veel fibrose en necrose gepaard gaan, moeten worden overwogen de dosering, zo wel van INH als van streptomycine, te verhogen wegens de bemoeilijkte diffusie.
- 4°. Het lijkt theoretisch mogelijk dat INH, indien hoge serumconcentraties kunnen worden bereikt, kan bijdragen tot een gunstig therapeutisch resultaat bij lage graden van INH-resistentie.



## SUMMARY AND CONCLUSIONS

This thesis describes the results of a study of the influence of serum concentrations of isonicotinic acid hydrazide (INH) on the therapeutic results obtained in pulmonary tuberculosis. Serum streptomycin (SM) concentrations are likewise briefly discussed.

The first chapter describes the *evolution* of the study of INH metabolism. This evolution proves to be closely correlated with developments in methods of determining INH and INH-metabolites. In view of the considerable individual differences in INH-decomposition, publications pointing out their possible consequences for INH-medication are discussed.

The second chapter reviews the principal methods of INH determination (Tables II and III and item C). The most reliable chemical method is probably that introduced by Peters (1958). Schmiedel's vertical diffusion method (VDM) is probably the most reliable of the microbiological methods. Because of its simplicity, this technique lies within the scope of any tuberculosis-clinic. See figure I.

The second part of this chapter describes the technique used by the author.

Some aspects of the VDM are discussed in detail in this chapter. The maximum error of the method proved to be  $\pm 25\%$ , provided the determination is carried out in triplicate, plotting a new standard line for each determination.

In view of the influence exerted by the INH-solvent on the results, the role of serum-proteins in INH-adsorption is discussed. There are arguments, it is found, indicating that INH enters a reversible binding with the serum-proteins (figures II, III and IV).

A study of the stability of INH in serum solutions showed that, when the VDM was used, no loss of INH or INH-equivalent occurred when serum containing INH was stored at  $+ 4^{\circ}\text{C}$ . during one week (table IV).

The in-vitro reduction of INH to hydrazones described by Jenne et al. (1962) is considered improbable in spite of Youatt's (1960) observation on direct antibacterial effect of these compounds on B.C.G.-strains.

The third chapter discusses the *serum INH-concentra-*

tions 2 and 6 hours after oral administration of 4 mg./kg. in a group of 123 patients with extensive fresh tuberculous pulmonary lesions. Dosage and intervals were chosen in accordance with most investigations in this field.

On the basis of the frequency-distributions (figures VI and VII), these 123 patients were divided into two groups: a group with low serum concentrations ("rapid inactivators") and a group with higher serum concentrations ("slow inactivators").

We speak of rapid inactivators when the 2-hour concentration after 4 mg./kg., given orally, is lower than, or equal to 2 mcg./ml. or when the 6-hour concentration is lower than, or equal to 0,5 mcg./ml. This division proved to be highly reproducible (table VII). A good correlation was found between 2-hour and 6-hour values (table VIII). Applying these criteria, 48% of patients were found to be rapid and 52% to be slow inactivators.

These percentages agree well with the values obtained with identical criteria in population-groups of European origin. They deviate considerably from the ratio between rapid and slow inactivators found in, for example, mongoloid populations-groups.

Weight gain, the activity of the infectious process and protracted INH-medication caused no appreciable change in the rate of INH-decomposition (table VIII).

The influence of fractional INH administration on the serum concentrations was studied next. It seems highly likely that, in slow inactivators, cumulation occurs after fractional administration of 100 mg. orally every 3-5 hours. In rapid inactivators this does not occur; the period of coverage in these patients was considerably shorter. (figure VIII)

The influence of *para-aminosalicylic* acid (PAS) on serum INH concentrations is also discussed. The literature (table IX) shows that the difficulty in all microbiological methods of determination lies in the error resulting from the antibacterial effect of PAS when INH concentrations are determined in the presence of PAS. Because it proved difficult to culture a homogeneous BCG-strain resistant up to high PAS concentrations, we attempted to antagonize the PAS effect by adding *para-amino-benzoic* acid (PABA). The error of the method was then found to be about  $\pm 50\%$  (table XII).

The influence of PAS on serum INH concentrations was studied in 16 patients (11 rapid and 5 slow inactivators).

First the 2-hour and 6-hour INH concentrations following administration of INH alone were determined once or several times in these patients. We found no significant increase in serum INH concentration 2 and 6 hours after administration of 4 mg./kg. orally and 2-4 g. PAS given orally twice (figures X and XI). A comparison with Peters' results (1958 en 1960), sofaras possible, disclosed good agreement.

The fourth chapter considers the data in the *literature* on studies of the relation between serum INH concentrations and some clinical findings. These data warrant conclusions which can be summarized as follows:

- a. As a rule, no appreciable relations were found between the dosage or serum concentrations of INH, and cultural sputum conversion.
- b. Canetti & Grosset (1958) found no correlation between the results of cultures from resected specimens after chemotherapy with INH (among other drugs) and the INH serum concentrations. In their material, the surgical patients constituted a factor selective in favour of cases with an unfavourable clinical course.
- c. These authors, like the Middlebrook group (1959), did establish a correlation between serum INH-levels and degree of resistance and/or catalase activity of INH-resistant mutants in secondary INH resistance.

The fifth chapter first considers the *criteria and definitions* used in our study of the abovementioned clinical results. Patients with moderate to very extensive cavitary tuberculous pulmonary lesions are suitable for a study of *cultural and microscopic sputum conversion*. The sensitivity of the bacilli should be within normal limits. The males and females ranged in age from 15 to 75 years. They were treated with PAS, SM and INH in combination.

The 123 patients thus selected were divided according to the rate of INH decomposition into rapid and slow INH inactivators; according to the spread of tuberculous pulmonary lesions into two categories, I and II (table XIV); and according to the rate of SM administration (3 and 7 times weekly, respectively).

We speak of microscopic or cultural sputum conversion when the sputum or the fasting stomach contents during treatment becomes negative and remains so throughout treatment. The time of conversion was 14 days after the last positive sputum.

After  $2\frac{1}{2}$  months of chemotherapy, rapid and slow inac-

tivators with more extensive lesions (category I) proved to differ little in "microscopic sputum conversion", resulting from discontinuation of expectoration.

A study of *cultural positivity in resected specimens* showed that 54 of the abovementioned 123 patients underwent thoracotomy. Of these, 51 underwent resection of some part of the lung 6 to 12½ months after starting chemotherapy. These 51 patients included 26 rapid and 25 slow inactivators. This distribution is readily comparable with the distribution of rapid and slow inactivators in the total number of patients.

On this basis, and on the basis of Kraan's (1960) and Mulder-De Jong's (1960) description of indications for resection therapy in this clinic, it can be concluded that the surgical patients constituted no factor of selection in favour of cases with an unfavourable clinical course. Cultural positivity was assumed when human non-resistant tubercle bacilli grew on Lowenstein-Jensen media or in inoculated guinea-pigs.

A study of the relation between *degree of resistance and catalase activity* of INH-resistant strains, was carried out in another group of 25 patients. Secondary INH resistance is probable in these patients.

The degree of resistance is defined as the maximum INH-concentration at which the colony growth on Lowenstein-Jensen media is the same as the growth on the control tubes. Catalase activity was expressed in the average number of seconds elapsing before gas formation.

Next, the *results* are presented of a study of the relation between INH concentrations and the *rate of sputum conversion* (table XVII through XX and figures XII through XIV). Given the abovementioned division into groups according to spread of the lesions and SM dosage, we find significant differences in the rate of microscopic sputum conversion between rapid (slower conversionrate) and slow INH-inactivators. The difference was most pronounced in category I with the most extensive lesions.

There were no significant differences between the same groups as to rate of cultural sputum conversion.

We then studied the rates of "cultural failures" and "microscopic failures" in rapid and slow inactivators.

The former included significantly more "cultural failures".

Comparing the number of patients with a positive *culture*

from resected lung-lesions, we found significantly more positive cultures among the rapid inactivators. The figures also supply the (non-significant) suggestion that the frequency of positive cultures increased as the SM dosage decreases (Tables XXI and XXII).

A study of the relation between serum INH concentration and *degree of resistance and catalase activity*, showed that the rapid INH inactivators have a high or a low bacillary resistance to INH. The slow inactivators, however, show a predominance of bacilli with a high resistance (10 mcg./ml. INH). The difference between rapid and slow inactivators with a degree of resistance  $\leq 1$  mcg./ml. is significant. See table XXIII. The less exactly determinable catalase activity showed fair agreement with this in that slow inactivators, unlike rapid inactivators, yielded no strains with a (mean) catalase activity  $< 10$  sec. (table XXIII).

These results are *discussed*. It is important that several authors saw an increased rate of "cultural failures" as a result of chemotherapy. This is probably an expression of (lasting) damage inflicted on the bacilli.

The increase in these non-culturable bacilli at lower INH concentrations is possibly a consequence of a lesser loss of acid-fastness of the bacilli, due to which they are seen in rapid inactivators but not in slow inactivators.

The increased cultural positivity after chemotherapy at lower INH-levels possibly has its cause in a later irreversibility of the bacteriostase as compared with the high INH-levels. Anaerobic conditions and impaired diffusion certainly play an important rôle.

According to Canetti & Grosset, (1953) the diminished occurrence of bacilli with a low grade of INH-resistance in secondary INH-resistance is a consequence of the disappearance of mutants with a low grade of resistance during an INH-medication in which higher serum-concentrations are attained. It seems likely that cultural positivity from resected specimens after chemotherapy e.g. is of clinical importance. This does signify that we have to try to raise the INH-serumlevels at least from the rapid inactivators. A uniform high INH-dosage, given to all patients, has greater toxic risks.

The sixth chapter is concerned with serum *SM-concen-*

*trations.* In connection with the great differences in SM-levels found by Middlebrook et al. (1959) between various individuals following intramuscular administration of 20 mg. kg., attempts were made to explain these differences.

A close correlation was established between creatinine-clearance and SM-concentrations in the serum (figure. XV). In 7 subjects with a normal creatinine clearance (120-170 ml./min.) we found a pronounced uniformity in serum-concentrations following intramuscular injection of 10 mg. SM-sulphate per kg. In 6 subjects with a moderately to distinctly disturbed clearance (70-105 ml./min.) we found a highly significantly slower excretion of SM.

The discussion considers in detail the SM-concentrations in the serum to be attained in patients with pulmonary tuberculosis. It seems not improbable that a dosage of 0.5 g. SM-sulphate daily may be insufficient if SM is to diffuse into avascular necrotic areas in order to reach the bacilli.

### *Conclusion*

The data from the literature and our personal observations tend to indicate the following conclusions.

1. It is advisable to determine the INH dosage on the basis of serum levels. This applies, in our opinion, to all forms of INH-treatment.
2. In the case of SM administration it is advisable - in view of toxic side-effects - first to determine the glomerularfiltration (creatinine-clearance), and to adjust the dosage to the results obtained.
3. In the case of inflammatory processes associated with pronounced fibrosis and necrosis, one should consider increasing the dosage, of INH and SM, in view of the impaired diffusion.
4. It is not unlikely that, at a low degree of resistance, partial success can nevertheless be obtained by high-dosage INH therapy in the case of existent INH-resistance.